大豆异黄酮对产蛋后期蛋鸡卵巢机能的影响

曹满湖 1 罗理成 1 孙佳静 1 方热军 1 朱静波 2

(1.湖南农业大学动物科技学院,长沙 410128; 2.湖南长沙县盛大养殖合作社,长沙 410100)

摘 要:本试验旨在研究大豆异黄酮对产蛋后期蛋鸡卵巢机能是否有改善作用。选取 70 周龄左右的海兰褐蛋鸡 450 只,随机分为 3 组,每组 5 个重复,每重复 30 只鸡。对照组饲喂基础饲粮,试验组分别饲喂在基础饲粮中添加 10 和 15 mg/kg 大豆异黄酮的试验饲粮。试验期 28 d。结果表明: 1)饲粮添加大豆异黄酮显著提高了产蛋率 (P<0.05),对黄体生成素、卵泡刺激素、孕酮分泌量影响均不显著 (P>0.05),但 15 mg/kg 添加组显著提高了雌二醇、β-内啡肽和卵黄蛋白原分泌量 (P<0.05)。2)与对照组相比,10 mg/kg 大豆异黄酮添加组对等级卵泡、小黄卵泡、大白卵泡数量以及各级卵泡的闭锁率影响不显著 (P>0.05),但 15 mg/kg 大豆异黄酮添加组显著提高各卵泡数量 (P<0.05),且极显著提高大白卵泡和初级卵泡数量 (P<0.01),同时极显著降低小黄卵泡、大白卵泡、次级卵泡的闭锁率 (P<0.01)。3)15 mg/kg 大豆异黄酮添加组极显著提高血浆和卵巢中超氧化物歧化酶活力 (P<0.01),显著提高肝脏中超氧化物歧化酶活力 (P<0.05)。由此可见,大豆异黄酮可提高产蛋后期蛋鸡的产蛋率,改善卵巢机能,其原理可能与提高雌二醇和β-内啡肽的分泌量和机体抗氧化性相关。不同剂量大豆异黄酮作用效果不一样,本研究中以 15 mg/kg 效果优于 10 mg/kg。关键词:蛋鸡;大豆异黄酮;生殖激素;卵巢;卵泡

中图分类号: S816.7 文献标识码: A 文章编码: 1006-267X(2016)00-0000-00

规模化养殖中蛋鸡一般在70周龄时产蛋率下降,卵巢机能开始衰退口。蛋鸡卵巢机能衰退不仅缩短产蛋周期,降低经济利益,也易引起卵巢炎,并由此导致沙壳蛋、软壳蛋等次蛋率增加;同时还易使蛋品因卵巢感染炎症而携带致病菌等,影响蛋品品质。蛋鸡卵巢机能的衰退与卵泡发育数量减少和闭锁卵泡数量增多有关,而黄体生成素(luteinizing hormone,LH)和卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone,FSH)及卵巢分泌的孕酮(progesterone,P4)和雌二醇(estradiol,E2)等是蛋鸡维持生殖活动的基本要素口。大豆异黄酮是一种健康安全的植物雌激

收稿日期: 2016-02-02

基金项目:长沙市科技计划"蛋鸡无抗养殖特色产业科技示范基地建设"(K1403187-21) 作者简介:曹满湖(1975-),女,湖南资兴人,副教授,博士,主要从事畜禽矿物质营养

和能量效价评定的研究工作。E-mail: lisa5587@sina.com

素,研究证明,其可提高蛋鸡产蛋率,增强机体免疫力,降低鸡蛋和鸡肉胆固醇含量,提高动物抗氧化能力等[2-5]。孟婷等[6-7]研究证明,饲粮中添加大豆异黄酮可调控血液三碘甲状腺原氨酸、四碘甲状腺原氨酸和E2等激素水平,从而提高产蛋率;周振雷等[8]研究表明,大豆黄酮可提高产蛋后期蛋鸡的生产性能,改善骨代谢,调控通过受垂体分泌的LH、FSH、P4和E2等生殖激素。卵巢是蛋鸡生殖过程、卵泡形成和发育以及蛋形成的关键部位,但目前关于大豆异黄酮对产蛋后期蛋鸡卵巢机能和卵泡发育的影响未有研究。因此,本研究通过研究大豆异黄酮对产蛋后期蛋鸡卵巢机能和卵泡发育的影响,初步探讨大豆异黄酮对产蛋后期蛋鸡生殖激素分泌和卵泡发育的影响,初步探讨大豆异黄酮对产蛋后期蛋鸡卵巢机能的作用,为延长产蛋周期或提高蛋品质提供生产依据。

#### 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

选 70 周龄海兰褐蛋鸡 450 只,随机分为 3 组,每组 5 个重复,每重复 30 只鸡。对照组饲喂基础饲粮,基础饲粮为参照 NRC (1994) 营养需要配制的粉状配合饲粮,其组成及营养水平见表 1。试验组分别在基础饲粮中添加 10 或 15 mg/kg 大豆异黄酮。

试验预试期 7 d, 饲喂基础饲粮,期间对照组和试验组的产蛋率和蛋均重均无显著差异 (*P*>0.05,表 2);正试期 28 d。试验蛋鸡舍为普通规模化蛋鸡舍(窗式),鸡舍内为 3 层笼养,每笼 3 只鸡。鸡舍室温控制在约 22 ℃,自动控制光照,总光照时间每天保持 16 h。鸡只自由采食、饮水,每天 08:00 和 20:00 分别饲喂。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)

项目 Items 含量 Content 原料 Ingredients 玉米 Corn 63 豆粕 Soybean meal 21 麦麸 Wheat bran 3 石粉 Limestone 8 预混料 Premix1) 5 合计 Total 100 营养水平 Nutrient levels2)

| 代谢能 ME/(MJ/kg) | 11.20 |
|----------------|-------|
| 粗蛋白质 CP        | 15.00 |
| 总磷 TP          | 0.47  |
| 钙 Ca           | 3.60  |
| 蛋氨酸 Met        | 0.37  |
| 赖氨酸 Lys        | 0.71  |

1)预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diet: VA 14 300 IU,VD<sub>3</sub> 27 00 IU,VE 29 IU,VK 1.8 mg,VB<sub>1</sub> 2.25 mg,VB<sub>2</sub> 8 mg,VB<sub>6</sub> 1.5 mg,VB<sub>12</sub> 0.03 mg,烟酸 nicotinic acid 35.75 mg,*D*—泛酸 *D*-pantothenic acid 7 mg,叶酸 folic acid 0.5 mg,生物素 biotin 0.06 mg,氯化胆碱 choline chloride 0.47 mg,Ca 15 g,P 5 g,Fe 100 mg,Cu 5 mg,Zn 75 mg,Mn 87.5 mg,*DL*—蛋氨酸 *DL*-Met 0.2%,氯化钠 NaCl 0.3%。

<sup>2)</sup>代谢能为计算值,其余为实测值。ME was a calculated value, while the others were measured values.

## 1.2 试验材料

试验所用大豆异黄酮由四川新一美生物科技有限公司提供,纯度为95%。

#### 1.3 指标测定

#### 1.3.1 生产性能和蛋品质测定

每天记录每组采食量、产蛋数、破蛋数和鸡只死亡数等日常情况。取试验期第 26~28 天 所产鸡蛋测定蛋均重、蛋壳重、蛋壳色泽、蛋黄色泽、蛋壳强度和哈夫单位等指标。所用仪器为 Egg Force Reader 和 Egg Analyzer,均来自 Orka Food Technology Ltd. (香港)。

## 1.3.2 卵巢切片的制作及苏木精-伊红染色

于试验第 28 天,每重复取 3 只鸡屠宰,取血后摘取卵巢,置于提前放入人抗角蛋白丝聚集素抗体(AFA)缓冲液的 10 mL 离心管中,待制组织切片。将卵巢迅速放到配制好的 Davidson's AFA 固定液(95% 乙醇 330 mL、福尔马林 220 mL、冰醋酸 115 mL、蒸馏水 335 mL,溶液总体积为 1 000 mL)中,固定 24 h,中途更换 1 次固定液。用自来水冲洗干净,放入 Leica ASP200S 全自动组织脱水机中脱水和透明→取出后石蜡包埋→切片(每隔 180 μm 切 1 张厚度为 6 μm 的切片)→贴片→60 ℃烘箱烘 36 h 后染色→二甲苯脱蜡 10 min→100%、95%、80%、70%各级酒精脱水各 2 min→蒸馏水冲洗→苏木精染色 10 min→自来水冲洗→1%盐酸溶液分色→自来水蓝化 40 min→蒸馏水冲洗→70%、80%、95%酒精依次脱水各 2 min→95%醇溶伊红染色 1 min→95%、100% II 冲洗伊红并酒精脱水各 2 min→晾干,待酒精挥发后→二甲苯 I、II 各透明 10 min→中性树脂封片。

光镜下观察切片,记录卵巢切片上正常和闭锁的初级卵泡、次级卵泡数量,并计算次级卵泡闭锁率。各级卵泡的判定标准:初级卵泡颗粒细胞为单层,次级卵泡颗粒细胞为多层,闭锁卵泡膜细胞层显著增厚,颗粒细胞层着色较深,呈现绒毛样褶皱突起,细胞内核固缩现象明显,颗粒层褶皱突起的多少和核固缩现象与闭锁程度呈正相关[9-10]。

## 1.3.3 激素测定

于试验第 28 天每个重复中随机取 3 只鸡,颈静脉放血致死,收集血液,于 2 500 r/min 下离心,取血清待测相关激素指标。采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测血清中卵黄蛋白原(vitellogenin,VTG)分泌量,所用试剂盒为 ADL 公司提供的 VTG 双抗体夹心(Rat Antichicken VTG)ELISA 试剂盒,测定程序按试剂盒说明书进行;血清中 LH、生长激素(growth hormone,GH)、FSH 分泌量采用 ELISA 法,试剂盒由上海天根生化科技有限公司提供,所用酶标仪为 Thermo Labsystems Multiskan MK3 全自动酶标仪(日本)。采用放射免疫法,并用上海核所日环光电仪器有限公司生产的 Sn-69513 型免疫计数器测定血清中 E2、P4 和 β-内啡肽(β-endorphin,EP)分泌量,分析步骤依照放射性免疫试剂盒(解放军总医院科技开发中心放免研究所,北京)说明书操作。

#### 1.3.4 氧化指标

于试验第 28 天每个重复中随机取 3 只鸡,颈静脉放血后,离心血清与血浆,摘取肝脏和卵巢,测定血浆、肝脏和卵巢中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活力,方法为黄嘌呤氧化酶法,试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

#### 1.4 数据统计分析

采用 SAS 9.0 进行单因素方差分析,Duncan 氏法进行多重比较。各组数据均以平均值 $\pm$ 标准差表示,P<0.05、P<0.01 分别为差异显著和极显著。

#### 2 结果与分析

## 2.1 大豆异黄酮对蛋鸡生产性能和蛋品质的影响

由表 2 可见,饲粮添加大豆异黄酮可显著提高蛋鸡产蛋率、蛋壳色泽、蛋壳重和哈夫单位(P<0.05),但对蛋均重、蛋黄色泽、蛋黄重和蛋壳强度影响不显著(P>0.05)。

表 2 大豆异黄酮对蛋鸡生产性能和蛋品质的影响

Table 2 Effects of daidzein on performance and egg quality of laying hens

项目 Items 大豆异黄酮添加水平 Daidzein supplementation SEM P 值 levels/(mg/kg) P-value

|                              | 0                  | 10                 | 15                 |       |       |
|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------|-------|
| 预试期 Preliminary trail period |                    |                    |                    |       |       |
| 产蛋率 Laying rate/%            | 86.45              | 85.94              | 86.07              | 0.265 | 0.590 |
| 蛋均重 Average egg weight/g     | 58.19              | 58.97              | 59.44              | 0.631 | 0.783 |
| 正试期 Formal trail period      |                    |                    |                    |       |       |
| 产蛋率 Laying rate/%            | 86.26 <sup>a</sup> | 88.54 <sup>b</sup> | 88.28 <sup>b</sup> | 1.517 | 0.038 |
| 蛋均重 Average egg weight/g     | 58.19              | 58.97              | 62.80              | 1.038 | 0.260 |
| 蛋壳色泽 Eggshell color          | 46.88ª             | 50.77 <sup>b</sup> | 51.09 <sup>b</sup> | 0.858 | 0.041 |
| 蛋黄色泽 Yolk color              | 5.08               | 5.82               | 5.83               | 0.096 | 0.240 |
| 蛋黄重 Yolk weight/g            | 25.14              | 27.06              | 27.14              | 0.457 | 0.064 |
| 蛋壳重 Eggshell weight/g        | 6.11ª              | 6.54 <sup>b</sup>  | 6.49 <sup>b</sup>  | 0.110 | 0.027 |
| 蛋壳强度 Eggshell strength       | 3.83               | 3.90               | 3.86               | 0.067 | 0.180 |
| 哈夫单位 Haugh unit              | 68.60 <sup>a</sup> | 71.79ª             | 71.18 <sup>b</sup> | 1.220 | 0.031 |

同行数据肩标无字母或相同小写字母表示差异不显著(P>0.05),不同小写字母表示差异显著(P<0.05),不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。下表同。

In the same row, values with no letter or the same small letter superscripts mean no significant difference (P>0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), and with different capital letter superscripts mean extremely significant difference (P<0.01). The same as below.

# 2.2 大豆异黄酮对蛋鸡相关生殖激素的影响

由表 3 可见,饲粮添加大豆异黄酮对蛋鸡血清中 LH、GH、FSH 和 P4 分泌量影响不显著 (P>0.05),但显著或极显著提高 EP (P<0.05)、VTG (P<0.05) 和 E2(P<0.01)的分泌量。

表 3 大豆异黄酮对蛋鸡相关生殖激素的影响

Table 3 Effects of daidzein on reproduction-related hormones of laying hens

| 项目 Items         | 大豆异黄酮 | 同添加水平 Daidzei | SEM  | P 值     |       |
|------------------|-------|---------------|------|---------|-------|
|                  |       | levels/(mg/kg |      | P-value |       |
| _                | 0     | 10            | 15   | _       |       |
| 黄体生成素 LH/(ng/mL) | 6.12  | 6.17          | 6.09 | 0.165   | 0.410 |
| 生长激素 GH/(ng/mL)  | 0.40  | 0.43          | 0.41 | 0.011   | 0.063 |

| 卵泡刺激素 FSH/(ng/mL) | 6.76                 | 6.83                 | 6.80                 | 0.183  | 0.406 |
|-------------------|----------------------|----------------------|----------------------|--------|-------|
| 孕酮 P4/ (ng/mL)    | 0.68                 | 0.71                 | 0.70                 | 0.019  | 0.244 |
| 卵黄蛋白原 VTG/(pg/mL) | 34.09 <sup>a</sup>   | 36.94 <sup>ab</sup>  | 38.464 <sup>b</sup>  | 0.981  | 0.025 |
| β-内啡肽 EP/ (pg/mL) | 455.38 <sup>a</sup>  | 534.97 <sup>ab</sup> | 587.48 <sup>b</sup>  | 14.142 | 0.035 |
| 雌二醇 E2/ (pg/mL)   | 488.05 <sup>Aa</sup> | 616.22 <sup>Bb</sup> | 644.53 <sup>Bb</sup> | 15.675 | 0.003 |

# 2.3 大豆异黄酮对蛋鸡卵泡发育的影响

由表 4 可见,饲粮添加大豆异黄酮显著或极显著提高等级卵泡(P<0.05)、小黄卵泡(P<0.05)、大白卵泡(P<0.01)、初级卵泡(P<0.01)和次级卵泡(P<0.05)数量,同时显著降低了小黄卵泡、大白卵泡和次级卵泡的闭锁率(P<0.05)。与对照组相比,10 mg/kg 大豆异黄酮添加组对等级卵泡、小黄卵泡、大白卵泡数量以及各级卵泡的闭锁率影响不显著(P>0.05),但 15 mg/kg 大豆异黄酮添加组显著提高各卵泡数量(P<0.05),且极显著提高大白卵泡和初级卵泡数量(P<0.01),同时极显著降低小黄卵泡、大白卵泡、次级卵泡的闭锁率(P<0.01)。

表 4 大豆异黄酮对蛋鸡卵泡数量和闭锁率的影响

Table 4 Effects of daidzein on number and atresia rate of follicles of laying hens

| 项目 Items                           | 大豆异黄酮添加水平 Daidzein   |                      |                      | SEM     | <b>P</b> 值 |
|------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------|------------|
|                                    | supp                 | lementation levels   |                      | P-value |            |
|                                    | 0                    | 10                   | 15                   | -       |            |
| 卵泡数量 Number of follicles           |                      |                      |                      |         |            |
| 等级卵泡 Hierarchical yellow follicles | 5.01 <sup>a</sup>    | 5.43 <sup>a</sup>    | 6.24 <sup>b</sup>    | 0.139   | 0.034      |
| 小黄卵泡 Smaller yellow follicles      | 16.82ª               | 16.82ª               | 18.63 <sup>b</sup>   | 0.437   | 0.015      |
| 大白卵泡 Large white follicles         | 11.86 <sup>Aa</sup>  | 13.56 <sup>Aa</sup>  | 16.37 <sup>Bb</sup>  | 0.349   | 0.006      |
| 初级卵泡 Primary follicles             | 128.15 <sup>Aa</sup> | 142.88 <sup>Ab</sup> | 163.53 <sup>Bc</sup> | 3.633   | 0.008      |
| 次级卵泡 Secondary follicles           | 116.22ª              | 127.66 <sup>b</sup>  | 144.28 <sup>b</sup>  | 3.245   | 0.071      |
| 闭锁率 Atresia rate/%                 |                      |                      |                      |         |            |
| 小黄卵泡 Smaller yellow follicles      | $46.52^{Aa}$         | 41.65 <sup>Aa</sup>  | 32.54 <sup>Bb</sup>  | 1.009   | 0.025      |
| 大白卵泡 Large white follicles         | 15.64 <sup>Aa</sup>  | 14.66 <sup>Aa</sup>  | 11.21 <sup>Bb</sup>  | 0.347   | 0.036      |
| 次级卵泡 Secondary follicles           | 5.31 <sup>Aa</sup>   | $4.96^{\mathrm{Aa}}$ | $3.48^{\mathrm{Bb}}$ | 0.114   | 0.028      |

## 2.4 大豆异黄酮对蛋鸡 SOD 活力的影响

由表 5 可见,饲粮添加大豆异黄酮显著提高蛋鸡血浆、肝脏和卵巢 SOD 活力 (P<0.05),与对照组相比,15 mg/kg 大豆异黄酮添加组显著提高蛋鸡肝脏 SOD 活力 (P<0.05),极显著提高卵巢 SOD 活力 (P<0.01),但 10 mg/kg 大豆异黄酮添加组对上述指标影响则不显著 (P>0.05)。

表 5 大豆异黄酮对蛋鸡 SOD 活力的影响

Table 5 Effects of daidzein on SOD activity of laying hens

| 项目 Items             | 大豆异黄酮                  | 洞添加水平 Daidze           | SEM                    | P 值     |       |
|----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------|-------|
|                      |                        | levels/(mg/kg          |                        | P-value |       |
|                      | 0                      | 10                     | 15                     | _       |       |
| 血浆 Plasma/(U/mL)     | 2 469.04 <sup>Aa</sup> | 2 858.45 <sup>Ab</sup> | 3 584.60 <sup>Bc</sup> | 63.706  | 0.016 |
| 肝脏 Liver/(U/mg prot) | 13.66 <sup>a</sup>     | 14.28 <sup>a</sup>     | 16.57 <sup>b</sup>     | 0.318   | 0.049 |
| 卵巢 Ovary/(U/mg prot) | 255.72 <sup>Aa</sup>   | 305.343 <sup>Aa</sup>  | 435.77 <sup>Bb</sup>   | 7.125   | 0.018 |

### 3 讨论

卵巢健康程度是决定蛋鸡产蛋周期和蛋品品质的重要指标之一,鸡体内生殖激素的分泌和卵泡的发育以及闭锁率是衡量蛋鸡卵巢健康状态的重要指标。卵泡根据形态和发育时间可分为:原始卵泡、小白卵泡、大白卵泡、小黄卵泡以及等级卵泡[11]。颗粒细胞在卵泡的生长发育过程中发挥重要作用,其增殖、分化和凋亡直接决定了卵泡的生长、选择和闭锁[12],而颗粒细胞的发育又与其处于不同阶段时垂体分泌的 FSH、LH 和卵巢分泌的 E2、P4 等生殖激素相关[13]。蛋鸡卵巢机能的衰退时表现为:不同发育阶段的卵泡数量减少,闭锁卵泡数量增多,卵泡闭锁主要发生在初级原始卵泡、大白卵泡和小黄卵泡阶段[14]。

大豆异黄酮具有微弱的雌激素活性,可与下丘脑、垂体等的 E2 受体协同作用,促进垂体 GH 生成和释放增加,刺激肝脏 GH 受体发育和胰岛素样生长因子的生成,促进机体营养物的代谢和利用,显著提高家禽生产性能<sup>[3,15-16]</sup>。本研究证明,饲粮中添加 10 或 15 mg/kg 大豆异黄酮,显著提高了产蛋率,且不同程度地提高了蛋均重,这与周振雷等<sup>[8]</sup>、孟婷等<sup>[17-18]</sup>、左伟勇等<sup>[19]</sup>以及顾欢等<sup>[20]</sup>的试验结果一致。通过测定与生殖激素相关的指标发现,大豆异黄酮组对 LH、GH、FSH 和 P4 的分泌量无显著影响,但显著或极显著提高了 EP、VTG 和 E2 这 3 种激素的分泌量。同时,大豆异黄酮显著提高初级卵泡数量,且添加量为 15 mg/kg 组较 10 mg/kg 组的影响更显著;而对等级卵泡、小黄卵泡和大白卵泡数量的影响,添加量

为 10 mg/kg 时无显著影响,添加量为 15 mg/kg 时显著提高。与此相对应,添加量为 15 mg/kg 时极显著降低小黄卵泡、大白卵泡、次级卵泡的闭锁率,但添加量为 10 mg/kg 时对各级卵泡的闭锁率影响不显著。以上结果表明:大豆异黄酮促进了产蛋后期蛋鸡各级卵泡数目的增加和发育,但其作用原理并非由于大豆异黄酮促进了 LH、FSH、P4 等生殖激素的分泌而增加,而是通过提高 E2、EP 和 VTG 的分泌而增多的。

家禽的生殖活动主要受下丘脑—垂体—性腺构成的生殖轴调控,这种调控通过下丘脑分泌的促性腺激素释放激素、垂体分泌的 LH 和 FSH 及卵巢分泌的 P4 和 E2 共同起作用<sup>[3]</sup>。大豆异黄酮可能首先直接影响性腺轴 E2 的分泌,进而影响 P4 的分泌,并通过负反馈调节刺激 FSH 和 LH 释放阿片类物质参与下丘脑—垂体—性腺轴的调控, EP 就是其中的一种阿片肽,它对蛋鸡生殖内分泌的调节既可通过下丘脑和脑垂体直接作用,也可通过作用于卵巢和子宫等而产生<sup>[21]</sup>。这与刘红云等<sup>[22]</sup>的研究结果类似,该研究证明:高剂量大豆异黄酮明显干扰下丘脑—垂体—性腺轴的内分泌机能,主要表现为抑制下丘脑的促性腺激素释放激素,加强下丘脑 EP 的合成和释放,而 EP 能以一种旁分泌方式阻止卵巢颗粒细胞分泌过多的 P4。这表明,EP 发挥作用可以不通过下丘脑和脑垂体中枢的调节,而是直接作用于卵巢上。本试验结果中大豆异黄酮对 LH 和 P4 的分泌没有显著影响,但却提高了 E2 和 EP 的分泌水平,且最终增加了各级卵泡数量的结果也与此推断相吻合。该理论还可从大豆异黄酮对 VTG 的增加效果得以推断。VTG 是最重要的卵黄前体物质之一,是蛋黄蛋白的主要来源,仅在激素的严格控制下才可诱导产生的。在 E2 的作用下蛋鸡在肝中可合成 VTG,并通过血液运输到卵巢,经修饰后以卵黄蛋白形式储存于卵母细胞中,为卵黄的发育提供能量<sup>[23]</sup>。

此外,大豆异黄酮对生殖激素分泌的影响及卵泡数目的作用受添加剂量的影响。本试验饲粮中添加 10 mg/kg 大豆异黄酮时,VTG 分泌量与未添加组差异并不显著,所以,各级卵泡数目也无显著差异。这可能与大豆异黄酮仅具有微弱的雌激素活性有关,其作用效果与时效和蛋鸡所处的阶段有关,所以其作用大小可能受剂量的影响。孟婷[6]的研究证明,在初产蛋鸡大豆异黄酮添加 3 或 6 mg/kg 即可提高蛋鸡的生产性能;而卢建等[24]对 45~58 周龄如皋黄鸡的研究证明,大豆异黄酮并未提高排卵前卵泡指数,但可提高受精蛋孵化率。本研究中的试验蛋鸡是处于产蛋高峰期后的产蛋率下降期,蛋鸡卵巢机能衰老,因而可能需要更大剂量的添加才可对其卵巢机能产生作用。

氧化应激是蛋鸡卵巢机能衰退的主要诱因<sup>[25-26]</sup>。本研究显示,与氧化性相关的 SOD 活力在各部位都所有提高,表明大豆异黄酮对蛋鸡抗氧化性的提高。SOD 活力提高,蛋鸡氧化应激降低,从而卵巢机能得以改善,这与生殖激素 E2、EP 和 VTG 的变化趋势结果一致,

同时也从抗氧化性证明了大豆异黄酮对卵巢机能的改善作用。这与其他关于大豆异黄酮对蛋鸡抗氧化性的研究结果一致<sup>[27-29]</sup>。

#### 4 结 论

- ① 饲粮添加大豆异黄酮显著提高了产蛋率,改善了产蛋后期卵巢的机能,增加了卵泡的发育和成活量。其作用原理可能为提高了生殖激素 E2 和 EP 的水平,这 2 种激素直接作用于卵巢,提高了 VTG 的贮备量,为促进卵泡数目的增加奠定了能量基础。
  - ② 不同剂量大豆异黄酮作用效果不一样,本研究中以 15 mg/kg 效果优于 10 mg/kg。

# 参考文献:

- [1] 海兰国际育种公司.海兰褐商品代蛋鸡饲养管理手册[R].[出版地不详]:海兰国际育种公司,2014.
- [2] ZAKARIA A H.Ovarian follicle development in young and old laying hens[J].Archiv für Geflügelkunde,1999,63:6–12.
- [3] 顾欢,田晓晓,杨海明.大豆异黄酮在蛋鸡生产中的研究进展[J].家禽科学,2011(12):44-46.
- [4] 李玉斌,师然伟.新型动物保健因子—大豆异黄酮在蛋鸡和奶牛生产中的应用[J].饲料广角,2008(15):32-34.
- [5] 钟乐伦,徐刚.蛋鸡日粮中添加大豆黄酮的研究进展[J].饲料研究,2006(1):14-16.
- [6] 孟婷,韩正康,王国杰.大豆黄酮对初产蛋鸡生产性能和血清生理生化指标的影响[J].畜禽业,2002(8):2-3.
- [7] 孟婷,韩正康,王国杰.大豆黄酮对初产蛋鸡生产性能和血清生理生化指标的影响[J].中国家禽,2002,24(13):13-14.
- [8] 周振雷,侯加法,陶庆树,等.大豆黄酮对产蛋后期蛋鸡内分泌及骨代谢的影响[J].中国兽医学报,2007,27(3):363-365.
- [9] 李莹辉,汪琳仙,杨传任.PMSG 及 GnRH 类似物对鸡卵泡闭锁的调节作用[J].畜牧兽医学报,1999,30(1):11-18.
- [10] 姜礼文.排卵诱导氧化应激对蛋鸡卵巢机能的影响[D].硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2013.
- [11] GRASSELLI F,BARATTA L,BAIONI L,et al.Bisphenol A disrupts granulosa cell function[J].Domestic Animal Endocrinology,2010,39(1):34–39.
- [12] JOHNSON A L, WOODS D C.Dynamics of avian ovarian follicle development:cellular

- mechanisms of granulosa cell differentiation[J].General and Comparative Endocrinology,2009,163(1/2):12–17.
- [13] YOU S,BRIDGHAM J T,FOSTER D N,et al.Characterization of the chicken follicle-stimulating hormone receptor (cFSH-R) complementary deoxyribonucleic acid, and expression of cFSH-R messenger ribonucleic acid in the ovary[J].Biology of Reproduction,1996,55(5):1055–1062.
- [14] JOHNSON A L.Regulation of follicle differentiation by gonadotropins and growth factors[J].Poultry Science,1993,72(5):867–873.
- [15] 王学梅,许丽.大豆黄酮对蛋鸡产蛋后期生产性能的影响[J].饲料博览,2010(5):33-36.
- [16] 黄艺丹,陈正礼.大豆异黄酮的生物活性及在畜牧生产上的应用[J].动物医学进展,2006,27(增刊):55-59.
- [17] 孟婷,韩正康,王国杰.日粮中添加大豆黄酮对产蛋鸡血清生理生化指标的影响[J].动物营养学报,2004,16(4):30-32.
- [18] 孟婷,王国杰,韩正康.日粮添喂大豆黄酮影响产蛋后期母鸡的生产性能和相关内分泌变化[J].畜牧兽医杂志,2005,24(3):1–3.
- [19] 左伟勇,王国杰,韩正康.添喂大豆黄酮对自由采食蛋鸡生产性能的影响[J].畜牧与兽医,2003,35(10):11–13.
- [20] 顾欢,施寿荣,童海兵,等.大豆黄酮对产蛋后期蛋鸡生产性能、血液指标和经济效益的影响[J].动物营养学报,2013,25(2):390–396.
- [21] 赵凤岐,黄毅,曹谨玲,等.大豆黄酮对产蛋鸡生产性能、血液指标及激素分泌的影响[J]. 核农学报,2008,22(6):892-897.
- [22] 刘红云,张才乔. 禽类下丘脑-垂体-性腺轴的内分泌调节[J]. 中国兽医杂志,2006,42(9):41-43.
- [23] 弓琴,呙于明,袁建敏.大豆黄酮与染料木黄酮对产蛋鸡生殖内分泌和蛋品质的影响[J]. 饲料研究,2009(4):1-3.
- [24] 卢建,王克华,曲亮,等.大豆黄酮对 45~58 周龄如皋黄鸡蛋鸡生产性能、繁殖器官发育和种蛋孵化率的影响[J].动物营养学报,2014,26(11):3420–3425.
- [25] TSAI-TURTON M,LUDERER U.Opposing effects of glutathione depletion and folliclestimulating hormone on reactive oxygen species and apoptosis in cultured preovulatory rat

follicles[J].Endocrinology,2006,147(3):1224–1236.

- [26] TAMURA H,TAKASAKI A,MIWA I,et al.Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilization rate[J].Journal of Pineal Research,2008,44(3):280–287.
- [27] 许合金,张军民,王修启,等.类黄酮对蛋鸡生产性能、蛋品质和血液生化特性的影响[J].中国畜牧兽医,2009,36(6):19-23.
- [28] 朱新建,韩正康,王国杰.日粮中添加大豆黄酮对蛋鸡抗氧化能力的影响[J].畜牧与兽医,2004,36(9):6-7.
- [29] 颜瑞,王恬.大豆异黄酮抗氧化作用研究进展[J].家畜生态学报,2010,31(4):96-100.

Effects of Daidzein on Ovary Function of Hens during the Late Laying Period

CAO Manhu<sup>1</sup> LUO Licheng<sup>1</sup> SUN Jiajing<sup>1</sup> FANG Rejun<sup>1</sup> ZHU Jingbo<sup>2</sup>

(1. Institute of Animal Nutrition, College of Animal Science and Technology, Hunan Agriculture

University, Changsha 410128, China; 2. Shengda Farming Cooperatives, Changsha 410100,

China)

Abstract: This study was conducted to investigate the possible improvement effects of daidzein (Da) on ovary function of hens during the late laying period. Four hundred and fifty 70-week-old Hy-Line Brown laying hens were randomly allocated to 3 groups with 5 replicates per group and 30 chickens per replicate. There were 3 diets in this experiment consisting of one basic diet and 2 test diets supplemented with 10 or 15 mg/kg Da, respectively. The experiment lasted for 28 d. The results showed as follows: 1) dietary Da supplementation significantly increased the laying rate (P < 0.05), but did not significantly impact on secretion levels of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and progesterone (P > 0.05), but 15 mg/kg Da supplementation group significantly increased the secretion levels of estradiol,  $\beta$ -endorphin and vitellogenin (P < 0.05). 2) Compared with the control group, 10 mg/kg Da supplementation group did not significantly influence the numbers of hierarchical yellow follicles, smaller yellow follicles and large white follicles, as well as the atresia rates of all kinds of follicles (P > 0.05), but 15 mg/kg Da supplementation group significantly increased the numbers of each follicles (P < 0.05), and extremely significantly increased the numbers of large white follicles and primary follicles (P < 0.01), meanwhile significantly reduced the atresia rates of smaller yellow follicles, large white follicles and secondary

follicles (P<0.05). 3) The 15 mg/kg Da supplementation group extremely significantly increased the superoxide dismutase activity in plasma and ovary of hens (P<0.01), and significantly increased the superoxide dismutase activity in liver (P<0.05). It is concluded that Da can improve the production and ovarian function of laying hens, and the principle was related to the increasing secretion of estradiol and  $\beta$ -endorphin and the improvement of resistance to oxidation. There are some differences between two kinds of Da, and 15 mg/kg may get the better effect than 10 mg/kg in our study.

Key words: laying hens; daidzein; reproductive hormone; ovarian function; follicles

Author, CAO Manhu, associate professor, E-mail: lisa5587@sina.com (责任编辑 田艳明)